

氏名	大 鳥 和 彦
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	甲 第 3269 号
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	Emergence of adenomatous aberrant crypt foci (ACF) from hyperplastic ACF with concomitant increase in cell proliferation (細胞増殖能亢進に伴うヒト大腸過形成性 aberrant crypt foci [ACF] からの腺腫性 ACF の発生に関する研究)
論文審査委員	主 査 教 授 福 島 昭 治 副主査 教 授 櫻 井 幹 己 副主査 教 授 木 下 博 明

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】ヒト大腸の aberrant crypt foci (ACF) において、その病巣 1 個当たりの crypt 数の少ないもの (≤ 49 crypts/focus) では *K-ras* 遺伝子点突然変異は約 60% に認められ、またその組織学的特徴は腺上皮の過形成であることが、これまでに明らかにされている。しかし、大腸発癌過程における ACF の占める位置は、いまだ不明確であり、これを明らかにすることが急がれる。今回この位置付けを検討する目的で、大きな ACF (≥ 50 crypts/focus) の組織学および分子生物学的特徴を解析した。

【材料と方法】外科的に切除された大腸癌 57 例の切除材料のうち肉眼的正常部位を 10% ホルマリンで固定後、1 症例につき約 35 cm² を 0.1% メチレンブルーにより染色し、実体顕微鏡下で ACF を同定した。その後 ACF を 2 分割し、DNA 抽出と病理組織学的検索のため H.E. 染色を行い、さらに細胞増殖能を見るための proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 染色と p53 蛋白染色を免疫組織化学的に行った。*K-ras* codon 12 点突然変異の検出は mismatch primers を用いた PCR と制限酵素消化にて行った。

【結果】大腸癌切除症例の ACF 数は、S 状結腸および直腸でそれぞれ $0.33 \pm 0.31/\text{cm}^2$, $0.39 \pm 0.39/\text{cm}^2$ と他の部位より高い値を示した。大きい ACF (≥ 50 crypts/focus) は、全体の 25% (109/433) であり、*K-ras* codon 12 の点突然変異が、85% (93/109) に認められた。また、その組織学的特徴は、65% (67/103) が過形成、10% (10/103) が腺腫、1% (1/103) は正常腺窩と区別出来ず、残り 24% (25/103) は Deschner が家族性大腸ポリポース患者で定義した stage I abnormality に準ずるものであった。この病変は、腺腫の前駆病変とされている 2 種の病変が共存する症例としては、stage I abnormality ACF のうち 7 例が過形成を、腺腫性 ACF のうち 2 例が stage I abnormality crypt を伴っていた。一方、同一病変で、過形成と stage I abnormality crypt が共存する ACF で PCNA-positive cell index を調べると、過形成部で $40.4 \pm 9.6\%$ 、stage I abnormality crypt で $59.4 \pm 3.5\%$ と stage I abnormality crypt で有意に高値を認めた。p53 蛋白染色陽性を示す ACF は全くなかった。

【考察】ACF は過形成、stage I abnormality、腺腫と多彩な組織型をとることが明らかとなった。また、ほとんどの ACF には、*K-ras* の点突然変異が存在し、その中で何らかの原因によりさらに著しい増殖能を得たものが過形成から stage I abnormality を経て腺腫へと移行することが、2 種の病変の共存例より示唆され、hyperplasia-adenoma sequence の存在する可能性が強く示された。

論文審査の結果の要旨

aberrant crypt foci (ACF) は、大腸発癌物質の投与によりマウスやラットの大腸粘膜に早期に見られるごく小さな病変であり、また最近ではヒトにも認められ大腸癌の前癌病変と考えられている。しかし、大腸発癌過程におけるACFの占める位置は、いまだ確定されておらず、これを明らかにすることが急がれている。本研究は、このACFの発癌における位置付けを検討する目的で、ヒト大腸の大きいACF (≥ 50 crypts/focus) における分子生物学的および組織学的特徴の解析を行った。大腸癌切除材料57例をメチレンブルーにより染色し、実体顕微鏡下でACFを同定、採取した。ACFを2分割し、DNA抽出と病理組織学的検索を行い、さらにproliferating cell nuclear antigen (PCNA) 染色とp53蛋白染色を免疫組織化学的に行った。K-ras codon 12点突然変異の検出は mismatch primers を用いたPCRと制限酵素消化にて行った。その結果、大きいACFは、ACF中の25% (109/433) を占め、そのうちK-ras codon12の点突然変異が85%に認められた。大きいACFの組織学的特徴は、65%が過形成、10%が腺腫、1%は正常腺窩と区別出来ず、残り24%はDeschnerが家族性大腸ポリポシス患者で腺腫の前駆病変と定義したstage I abnormality に準ずるものであった。またstage I abnormality ACFのうち7例が過形成を、腺腫性ACFのうち2例がstage I abnormalityを伴うなど2種の異なる病変の共存する症例がみられた。同一病巣内に過形成とstage I abnormalityが共存するACFのPCNA-positive cell indexを調べると、stage I abnormalityで有意に高値を示した。p53蛋白染色陽性を示すACFは認められなかった。以上、ACFは多彩な組織型をとり、その大多数には、K-ras の点突然変異が存在し、そのうち何らかの原因によりさらに著しい増殖能を得たものが過形成からstage I abnormalityを経て腺腫へと移行することが示唆され、hyperplasia-adenoma sequenceと言うべきものが存在する可能性が強く示された。

本研究は、ACFのヒト大腸発癌における位置付けを明らかにし、ヒト大腸発癌過程の解明に成果をもたらしたものであり、著者は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。